

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets <sup>6</sup> : C12Q 1/04, 1/10	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 95/04157 (43) Date de publication internationale: 9 février 1995 (09.02.95)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR94/00958</p> <p>(22) Date de dépôt international: 28 juillet 1994 (28.07.94)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 93/09294, 28 juillet 1993 (28.07.93) FR</p> <p>(71)(72) Déposant et inventeur: RAMBACH, Alain [FR/FR]; 73, boulevard Montparnasse, F-75006 Paris (FR).</p> <p>(74) Mandataire: WARCOIN, Jacques; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).</p>		<p>(81) Etats désignés: CA, JP, RU, US, brevet européen (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publiée</p> <p><i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si de telles modifications sont reçues.</i></p>
<p>(54) Title: MICROORGANISM IDENTIFICATION METHOD USING AT LEAST TWO CHROMOGENS</p> <p>(54) Titre: PROCEDE D'IDENTIFICATION DE MICROORGANISMES AVEC AU MOINS DEUX CHROMOGENES</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A method for revealing the presence or absence of a particular microorganism strain in a culture medium, wherein at least two strain enzyme substrate chromogens are added to the culture medium, said chromogens being selected so that the presence of said strain in the culture medium is revealed by a third colour.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>La présente invention concerne un procédé de mise en évidence de la présence ou de l'absence d'une souche de microorganisme particulière dans un milieu de culture, caractérisé en ce qu'on introduit dans le milieu de culture au moins deux chromogènes substrats d'enzyme de ladite souche, lesdits chromogènes étant choisis pour que dans le milieu de culture la présence de ladite souche soit révélée par une tierce couleur.</p>		

# **UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION**

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	GB	Royaume-Uni	MR	Mauritanie
AU	Australie	GE	Géorgie	MW	Malawi
BB	Barbade	GN	Guinée	NE	Niger
BE	Belgique	GR	Grèce	NL	Pays-Bas
BF	Burkina Faso	HU	Hongrie	NO	Norvège
BG	Bulgarie	IE	Irlande	NZ	Nouvelle-Zélande
BJ	Bénin	IT	Italie	PL	Pologne
BR	Brésil	JP	Japon	PT	Portugal
BY	Bélarus	KE	Kenya	RO	Roumanie
CA	Canada	KG	Kirghizistan	RU	Fédération de Russie
CF	République centrafricaine	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CG	Congo	KR	République de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KZ	Kazakhstan	SI	Slovénie
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slovaquie
CM	Cameroon	LK	Sri Lanka	SN	Sénégal
CN	Chine	LU	Luxembourg	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LV	Lettonie	TG	Togo
CZ	République tchèque	MC	Monaco	TJ	Tadjikistan
DE	Allemagne	MD	République de Moldova	TT	Trinité-et-Tobago
DK	Danemark	MG	Madagascar	UA	Ukraine
ES	Espagne	ML	Mali	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande	MN	Mongolie	UZ	Ouzbékistan
FR	France			VN	Viet Nam
GA	Gabon				

**"Procédé d'identification de microorganismes avec au moins deux chromogènes"**

La présente invention concerne un procédé de mise en évidence de la présence ou de l'absence d'une souche de microorganisme particulière dans un milieu de culture.

La détection de microorganisme est très importante notamment dans l'industrie alimentaire, au niveau du contrôle des eaux ou en médecine, sachant que ces microorganismes peuvent non seulement se révéler être des agents pathogènes, mais également consister en des agents mettant en évidence certains types de contaminations.

Différents procédés permettent de mettre en évidence la présence de microorganismes, dans un milieu quelconque, consistant à prélever un échantillon du milieu considéré, puis à favoriser le développement des microorganismes présents par culture sur ou dans un milieu approprié.

De manière à simplifier la mise en évidence des microorganismes présents, il a été proposé d'utiliser dans le milieu de détection des composés colorés dont la présence est caractéristique d'un microorganisme donné.

La coloration est souvent révélatrice d'une activité enzymatique liée au microorganisme considéré, et le résultat de cette activité peut résulter en une modification du pH du milieu, mise en évidence par un indicateur coloré (EP-A-0 395 532), ou encore en la libération d'un composé chromophore ou fluorophore (FR-A-2 684 110).

Les chromophores ou fluorophores sont des composés généralement obtenus par hydrolyse enzymatique de composés chromogènes ou fluorogènes correspondants, présents dans le milieu de culture.

Les fluorophores émettent un rayonnement caractéristique par fluorescence.

Les composés chromophores sont caractérisés par une couleur d'une longueur d'onde dominante.

Parmi les composés chromophores connus, on notera notamment les dérivés de l'indoxyle, de l'hydroquinoline ou encore les dérivés naphthoïques, ou les dérivés du naphtyle et du phényle.

De manière à différencier deux genres de microorganismes différents dans un milieu de culture, il a même été proposé d'introduire deux agents chromogènes, chacun libérant un composé chromophore d'une couleur caractéristique de la présence d'un microorganisme particulier (US-A-5 210 022).

Bien que l'ensemble de ces milieux soit performant pour la détection de microorganismes d'un genre spécifique, comme par exemple Salmonella, Candida ou E.coli, et leur distinction parmi d'autres espèces, ils ne permettent toutefois pas la détection d'un grand nombre de microorganismes de genres différents sur un même milieu de culture, ou encore parmi les microorganismes d'un même genre la différenciation des espèces pathogènes des autres.

Une telle distinction paraît d'autant plus importante pour certaines espèces de levures comme Candida albicans qui est responsable de plus de 50% des pathologies liées aux levures.

Or, on a mis en évidence d'une manière inattendue que l'on pouvait observer au minimum quatre colorations différentes permettant de caractériser les souches en introduisant dans le milieu de culture au moins deux chromogènes substrats d'enzymes d'une souche particulière, les deux chromogènes étant choisis pour que dans le milieu de culture la présence d'au moins une souche soit révélée par une tierce couleur, à savoir :

- les deux couleurs des chromophores correspondant aux chromogènes choisis,
- la couleur correspondant au mélange des chromophores et
- la tierce couleur.

Dans de nombreux cas, la tierce couleur ne correspond pas au mélange des couleurs des deux chromophores correspondants et est une couleur dont la longueur d'onde dominante ne correspond pas à la longueur d'onde dominante du mélange des chromophores libérés par les chromogènes présents dans le milieu de culture pris isolément.

La longueur d'onde dominante des chromophores et des tierces couleurs pourra être calculée en référence à la lumière du jour, telle que définie par la CIE (Commission Internationale de l'Energie) comme illuminant D<sub>65</sub>, à partir de toute méthode standard de mesure de couleur d'objet, en particulier avec un spectrocolorimètre.

La présente invention concerne donc un procédé de mise en évidence de la présence ou de l'absence d'une souche de microorganisme particulière dans un milieu de culture, pour lequel on introduit au moins deux chromogènes substrats d'enzyme de ladite souche, lesdits chromogènes étant choisis pour

que dans le milieu de culture la présence de ladite souche soit révélée par une tierce couleur.

Les chromogènes sont notamment substrats des enzymes suivantes:  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -galactosidase, phosphatase, N-acetyl- $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -galactosidase,  $\alpha$ -mannosidase, sulfatase, esterase, lipase et peptidase.

Les chromogènes sont avantageusement choisis parmi les composés d'une même famille chimique, de préférence parmi ceux qui libèrent par hydrolyse deux chromophores différents qui peuvent subir une réaction de couplage.

Par réaction de couplage, on entend toute interaction physico-chimique par laquelle la longueur d'onde dominante résultante est différente de la longueur d'onde dominante du mélange des deux chromophores pris isolément.

D'une manière préférentielle, les chromogènes sont de la famille des indoxyles, en particulier des dérivés indoxyle alkylés, halogénés ou dihalogénés.

Parmi les chromophores dérivés de l'indoxyle préférés, on trouve les dérivés indoxyle, bromo-indoxyle, chloro-indoxyle, dichloro-indoxyle, chlorobromo-indoxyle, tri-chloro-indoxyle et méthyl-indoxyle, en particulier les dérivés suivants: 6-chloro-indoxyle, 5-bromo-indoxyle, 3-bromo-indoxyle, 4,6-dichloro-indoxyle, 6,7-dichloro-indoxyle, 5-bromo-4-chloro-indoxyle, 5-bromo-6-chloro-indoxyle ou 4,6,7-trichloro-indoxyle.

Par microorganisme dont la présence ou l'absence est mise en évidence par le procédé selon l'invention, on entendra les levures, les champignons unicellulaires ou moisissures et les bactéries.

Le procédé selon l'invention est particulièrement adapté pour la mise en évidence de la présence ou l'absence des levures du genre Candida, en particulier Candida albicans et Candida tropicalis.

De même, parmi les bactéries dont la présence ou l'absence est susceptible d'être mise en évidence par le procédé selon l'invention, on trouve notamment les bactéries du genre Streptococcus, Klebsiella, Enterobacter, Escherichia, Citrobacter, Staphylococcus, Listeria, Clostridium ou Proteus.

Par ailleurs, il a été également constaté que l'adjonction d'un hydrate de carbone dans le milieu de culture à une concentration élevée permettait d'augmenter le nombre de couleurs susceptibles d'être obtenues par le procédé selon l'invention, c'est à dire pour un nombre limité de chromogènes d'obtenir un

5 nombre élevé de couleurs distinctes permettant de distinguer autant de microorganismes différents.

En conséquence, la présente invention concerne un procédé tel que défini précédemment, pour lequel le milieu de culture présente une concentration élevée en hydrate de carbone, de préférence en glucose dans un milieu à

10 base de peptone.

La concentration élevée en hydrate de carbone est avantageusement comprise entre 10 et 30 g/l.

De même, lorsque au moins l'un des chromogènes est substrat de la phosphatase, il est avantageux d'employer un milieu comprenant une concentration élevée en phosphate, de préférence comprise entre 1 et 3 g/l.

15

Les exemples reportés dans les Tableaux ci-après permettent d'illustrer le procédé selon l'invention sans toutefois chercher à en limiter la portée.



**Tableau I: Exemples de chromophores simples et de tierces couleurs**

Les couleurs suivantes ont été observées pour des chromogènes correspondant à différents chromophores et pour les mélanges dans un même milieu dont la composition est donnée ci-après (g/l): agar (15), peptone (5), NaCl (5), extrait de levure (2) et extrait de viande (1).

	Chromophore	Couleur
10	5-bromo-4-chloro-3-indoxyle	bleuâtre
	5-bromo-6-chloro-3-indoxyle	rougeâtre
15	6-chloro-3-indoxyle	roseâtre
	méthyl-indoxyle	incolore
20	5-bromo-4-chloro-3-indoxyle	
	5-bromo-6-chloro-3-indoxyle	bleu métallique*
	5-bromo-4-chloro-3-indoxyle	
	6-chloro-3-indoxyle	violet métallique*
25	6-chloro-3-indoxyle	
	méthyl-indoxyle	violacé*

\* tierce couleur

30

**Tableau II:** Exemples de coloration selon l'invention pour l'identification directe d'espèces variées de bactéries, distinguant également E. coli des coliformes

- 5 Les milieux ci-après ont été préparés dans une base en g/l agar (15), peptone (5), NaCl (5), extrait de levure (2) et extrait de viande (1) avec :

A (mg/l): phenyl glucuronide (100), 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-glucuronide (50), 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl-glucoside (50).

- 10 B (mg/l): 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-galactoside (50), 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl-glucoside (50).

C (g/l): 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-glucoside (50), 6-chloro-3-indoxyl-galactoside (50).

15

	A	B	C
<i>Streptococcus D</i>	rougeâtre	rougeâtre	bleu
20 <i>Klebsiella</i>	rougeâtre	bleu-métallique*	violet-métallique*
<i>Enterobacter</i>	rougeâtre	bleu-métallique*	violet-métallique*
<i>Enterobacter MUG+</i>	bleu-métallique*		
<i>E. coli</i>	bleu	bleu	roseâtre
<i>Citrobacter</i>	rougeâtre	bleu-métallique*	violet-métallique*
25 <i>Proteus mirabilis</i>	incolore	incolore	incolore

\* tierce couleur

Les couleurs données pour les milieux standard sont les suivantes :

30

*Streptococcus D* (bleu), *Klebsiella* (bleu), *Enterobacter* (bleu), *Enterobacter MUG+* (bleu), *E. coli* (incolore), *Citrobacter* (incolore).

35

**Tableau III :** Exemples de coloration selon l'invention pour des espèces variées de levure, mettant en évidence une tierce couleur et un effet de coloration dû à la présence de glucose et de phosphate

5

Les milieux ci-après ont été préparés:

D (g/l): (comparatif) agar (15), peptone (5), extrait de levure (2), extrait de viande (1), NaCl (5), 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-N-acétyl-glucosaminide (0,1).

10

E (g/l): agar (15), peptone (10), glucose (20), phosphate (2), 5-bromo-4-chloro-3-indoxyl-N-acétyl-glucosaminide (0,1), 5-bromo-6-chloro-3-indoxyl-phosphate (0,1).

15

	D	E
<i>Candida albicans</i>	bleuâtre	vert-bleu**
<i>Candida glabrata</i>	incolore	rose-violet**
20 <i>Candida guilliermondii</i>		rose-violet pâle**
<i>Candida krusei</i>		rose-violet**
<i>Candida lusitanae</i>		rose-violet pâle**
<i>Candida parapsilosis</i>		blanche-grise**
<i>Candida tropicalis</i>	bleuâtre	bleu-métallique* (avec halo)
25 <i>Cryptococcus neoformans</i>		blanche-rose**
<i>Trichosporon beigeli</i>		rose-grise**

30

\* tierce couleur, \*\*effet de milieu

Les résultats ci-dessus montrent que l'adjonction de glucose et de phosphate permet d'élargir la gamme de couleurs disponibles pour un même milieu, permettant ici de distinguer sept espèces différentes, et en particulier de repérer Candida albicans sans ambiguïté.

### REVENDECATIONS

- 1) Procédé de mise en évidence de la présence ou de l'absence d'une souche de microorganisme particulière dans un milieu de culture, caractérisé en ce qu'on introduit dans le milieu de culture au moins deux chromogènes
- 5 substrats d'enzyme de ladite souche, lesdits chromogènes étant choisis pour que dans le milieu de culture la présence de ladite souche soit révélée par une tierce couleur.
- 2) Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que les chromogènes sont des composés de la même famille chimique.
- 10 3) Procédé selon l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce que les deux chromogènes libèrent par hydrolyse deux chromophores différents qui peuvent subir une réaction de couplage.
- 4) Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que les chromogènes sont de la famille des indoxyles, en particulier des dérivés indoxyle-
- 15 alkylés, halogénés ou dihalogénés.
- 5) Procédé selon l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce que le chromophore est choisi parmi les dérivés indoxyle, bromo-indoxyle, chloro-indoxyle, dichloro-indoxyle, chloro-bromo-indoxyle, bromo-indoxyle et méthyl-indoxyle, en particulier les dérivés suivants: 6-chloro-indoxyle, 5-bromo-
- 20 indoxyle, 3-bromo-indoxyle, 4,6-dichloro-indoxyle, 6,7-dichloro-indoxyle, 5-bromo-4-chloro-indoxyle, 5-bromo-6-chloro-indoxyle ou 4,6,7-trichloro-indoxyle.
- 6) Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que les microorganismes sont des levures.
- 7) Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que les levures
- 25 sont du genre Candida.
- 8) Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que les microorganismes sont des bactéries.
- 9) Procédé selon la revendication 8, caractérisé en ce que les bactéries sont du genre Streptococcus, Klebsiella, Enterobacter, Escherichia, Citrobacter, Staphylococcus, Listeria, Clostridium ou Proteus.
- 30 10) Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que le milieu de culture présente une concentration élevée en hydrate de carbone.

11) Procédé selon la revendication 10, caractérisé en ce que le milieu de culture présente une concentration élevée en glucose dans un milieu à base de peptone.

12) Procédé selon l'une des revendications 10 ou 11, caractérisé en ce que la concentration en hydrate de carbone est comprise entre 10 et 30 g/l.

13) Procédé selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que le chromogène est un substrat de la phosphatase.

14) Procédé selon la revendication 13, caractérisé en ce que le milieu comprend une concentration élevée en phosphate.

15) Procédé selon la revendication 14, caractérisé en ce que la concentration en phosphate est comprise entre 1 et 3 g/l.

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 C12Q1/04 C12Q1/10

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 6 C12Q C12M

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US,A,5 210 022 (JONATHAN N. ROTH; WILFRED J. FERGUSON) 11 May 1993 cited in the application see the whole document ---	1-15
A	FR,A,2 684 110 (BIO MERIEUX) 21 May 1993 cited in the application see the whole document ---	1-15
A	EP,A,0 065 137 (TAKEUCHI, MITSU HARU ET AL.) 24 November 1982 see table 1 ---	1, 10-15
A	EP,A,0 451 775 (BECTON, DICKINSON & COMPANY) 16 October 1991 see the whole document ---	1-15
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

\*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

\*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

\*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

\*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 1994

Date of mailing of the international search report

02.12.94

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Döpfer, K-P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PL ER 94/00958

## C(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO,A,86 05206 (UNIVERSITY OF CINCINNATI) 12 September 1986 see claims 1-4,7,22-24 -----	1-13

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Serial Application No

PCT/FR 94/00958

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US-A-5210022	11-05-93	US-A- 5358854	25-10-94
FR-A-2684110	28-05-93	CA-A- 2083801	26-05-93
		EP-A- 0544605	02-06-93
EP-A-0065137	24-11-82	JP-C- 1644433	28-02-92
		JP-B- 3006798	30-01-91
		JP-A- 57189695	22-11-82
EP-A-0451775	16-10-91	AU-B- 630549	29-10-92
		AU-A- 7360791	17-10-91
		JP-A- 4222596	12-08-92
WO-A-8605206	12-09-86	EP-A- 0215066	25-03-87
		US-A- 5089395	18-02-92



A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE  
CIB 6 C12Q1/04 C12Q1/10

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)  
CIB 6 C12Q C12M

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si cela est réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US,A,5 210 022 (JONATHAN N. ROTH; WILFRED J. FERGUSON) 11 Mai 1993 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-15
A	FR,A,2 684 110 (BIO MERIEUX) 21 Mai 1993 cité dans la demande voir le document en entier ---	1-15
A	EP,A,0 065 137 (TAKEUCHI, MITSU HARU ET AL.) 24 Novembre 1982 voir tableau 1 ---	1,10-15
A	EP,A,0 451 775 (BECTON, DICKINSON & COMPANY) 16 Octobre 1991 voir le document en entier ---	1-15
-/--		

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

\* Catégories spéciales de documents cités

- \*A\* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- \*E\* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- \*L\* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- \*O\* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- \*P\* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- \*T\* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- \*X\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- \*Y\* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- \*d\* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

18 Novembre 1994

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02.12.94

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Döpfer, K-P

# RAPPORT D RECHERCHE INTERNATIONALE

De le International No

PCT/FR 94/00958

## C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	WO,A,86 05206 (UNIVERSITY OF CINCINNATI) 12 Septembre 1986 voir revendications 1-4,7,22-24 -----	1-13

# RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux familles de brevets

D. internationale No

PCT/FR 94/00958

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US-A-5210022	11-05-93	US-A- 5358854	25-10-94
FR-A-2684110	28-05-93	CA-A- 2083801	26-05-93
		EP-A- 0544605	02-06-93
EP-A-0065137	24-11-82	JP-C- 1644433	28-02-92
		JP-B- 3006798	30-01-91
		JP-A- 57189695	22-11-82
EP-A-0451775	16-10-91	AU-B- 630549	29-10-92
		AU-A- 7360791	17-10-91
		JP-A- 4222596	12-08-92
WO-A-8605206	12-09-86	EP-A- 0215066	25-03-87
		US-A- 5089395	18-02-92

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**